

碳酸氢铵代替尿素进行谷氨酸发酵的试验

苏州味精厂

尿素在谷氨酸发酵生产中作为氮源的主要来源,同时又起到调整 pH 的作用,因此在谷氨酸发酵生产中,尿素是被广为采用的原料之一。但是,由于工农业生产迅速发展,特别是农业大干快上的大好形势,对尿素的需求日益增多,因此,味精生产中出现了尿素供不应求的现象。寻找新的代用原料,已成为当务之急。目前有些厂使用氨水代替尿素取得了良好效果。为了进行碳酸氢铵代替尿素的试验,我厂在党支部的领导下,组成了三结合小组,通过摇瓶和 2000 升罐中型试验,收到了良好效果。自 1974 年 9 月,我厂已开始采用了零时加尿素,中途流加碳酸氢氨的生产工艺。实践证明,只要合理使用,谷氨酸发酵得率不致下降,对提取收率及产品质量没有影响。

试验材料

一、菌种

7251-B9, 由杭州味精厂提供。

二、培养基

(一) 种子培养基(%)

淀粉水解糖 3 ± 0.5 , 玉米浆 2.4, 硫酸镁 0.04, 磷酸氢二钾 0.2, 尿素 0.3, pH 6.7 (用 NaOH 调节)。

(二) 发酵培养基(%)

淀粉水解糖 13, 磷酸氢二钠 0.17, 硫酸镁 0.06, 氯化钾 0.05, 麸皮水解液 0.75 ± 0.05 , 硫酸锰 3ppm, pH 7.6 (用 NaOH 调节)。

试验结果

一、摇瓶试验结果

发酵培养基配料时即加入 1.2% 的尿素, 供作初期所需氮源, 碳酸铵用于中途流加以调节 pH 的变化和补充后期对氮源的需要。以全过程都使用尿素作为对照, 试验结果示如表 1。

表 1 流加碳酸氢铵同流加尿素发酵结果的比较

组别	O. D	残糖 (%)	谷氨酸 (%)	尿素或碳酸氢铵流加次数和总量
对照组	0.50	0.95	5.25	尿素 2 次 计 2%
	0.55		3.46	
	0.60		4.39	
试验组	0.49	0.65	3.19	NH ₄ HCO ₃ , 5 次 每次 1.5 毫升计 11.25%
	0.45		3.19	
	0.45		2.15	
对照组	0.54	0.90	4.62	尿素 2 次 计 2%
	0.53		5.01	
	0.53		4.70	
试验组	0.47	1.1	3.34	NH ₄ HCO ₃ , 5 次 每次 1.5 毫升计 11.25%
	0.46		2.72	

注: 500 毫升三角瓶装液量 20 毫升, 31℃ 振荡培养, 摇床振次 110 次/分, 冲程 7.5 厘米。碳酸氢铵流加液配成 30% 浓度, 10 磅/厘米² 灭菌 15 分钟。

由表 1 结果看出: 流加碳酸氢铵的试验组比全部使用尿素的对照组产酸低得多。主要原因可能是流加次数多, 流加体积大, 以致使发酵液体积增加 1/3 以上。

为了克服发酵液因流加碳酸氢铵被明显稀释的影响, 我们将流加碳酸氢铵试验组的摇瓶装液量减至 15 毫升, 而其配料量仍以 20 毫升为准, 即采用浓培养基进行试验。并为减少 NH₄⁺ 因高温灭菌而逃逸, 把碳酸氢铵于 50—60℃ 溶解后不经灭菌直接使用。结果如表 2 所示: 以碳酸氢铵代替尿素时, 谷氨酸产量无

表 2 消除稀释影响流加碳酸氢铵的发酵结果

组别	O. D	残糖 (%)	谷氨酸 (%)	尿素和碳酸氢铵流加次数和总量
对照组	0.47	1.0	5.85	尿素 2 次 计 2%
	0.48		5.92	
	0.48		5.70	
试验组	0.49	3.4	5.04	NH ₄ HCO ₃ , 3 次 3.5 毫升共 7.0%
	0.49		5.21	
	0.44		5.34	
对照组	0.46	1.3	5.83	尿素 2 次 计 2%
	0.47		5.62	
	0.48		5.69	
试验组	0.54	2.85	5.01	NH ₄ HCO ₃ , 4 次 4 毫升共 8%
	0.54		5.09	
	0.54		5.02	

注: 试验组摇瓶装液量为 500 毫升三角瓶装 15 毫升培养液, 对照组为 20 毫升。

明显下降。

此外, 又以摇瓶试验了以碳酸氢铵代替全部尿素, 即零小时加入碳酸氢铵 1.2%, 中途也流加碳酸氢铵, 结果如表 3 所示。

二、2000 升罐试验结果

于常规发酵条件下, 在 2000 升发酵罐试验了碳酸氢铵代替部分尿素和代替全部尿素进行谷氨酸发酵的效果, 结果如表 4 所示。

表 3 全部使用碳酸氢铵时谷氨酸发酵结果

组别	O. D	残糖 (%)	谷氨酸 (%)	流加尿素及碳酸氢铵次数及总量
对照组	0.51	1.1	5.43	尿素 2 次 2%
	0.58		4.68	
	0.56		3.62	
试验组	0.45	0.75	4.23	碳酸氢铵 8 次共 8 毫升 计 17%
	0.46		4.65	
	0.48		4.54	

注: 摇瓶装液量均为 500 毫升三角瓶装培养液 20 毫升。

表 4 全部使用碳酸氢铵和部分使用碳酸氢铵代替尿素时谷氨酸发酵结果

内容	百分比	初糖 (%)	残糖 (%)	O. D	谷氨酸 (%)	转化率 (%)	发酵时间 (小时)
全部尿素对照		11.4	0.7	0.32	4.16	35.84	30
初尿素流加碳酸氢铵		14.4	0.75	0.44	4.56	38.05	40
全部碳酸氢铵		12.2	0.9	0.35	4.05	39.8	40

注: 所用碳酸氢铵均系在 50—60℃ 溶解的 30% 浓度溶液 (不经灭菌)。

以上结果看出, 碳酸氢铵全部代替或部分代替尿素时均获得较好结果, 谷氨酸产率同全部使用尿素差不多。并经无菌检查证明, 碳酸氢铵不经灭菌不致造成杂菌污染, 这可能与碳酸氢铵溶液 pH 值较高有关。

在发酵罐中使用碳酸氢铵代替尿素时, 原有谷氨酸发酵的工艺、设备没有什么改动, 在技术管理上不会增加新的困难, 况且碳酸氢铵来源广泛, 因此是可行的。但是, 由于使用碳酸氢铵时, 易挥发氨气, 造成氮源的损失, 所以在流加碳酸氢铵时, 应由进风管支路进入, 这样, 因其随着无菌空气被带入发酵液底层, 与空气一并分布溶解于发酵液中, 这样有利于减少挥发和易被谷氨酸产生菌充分接触和摄取。此外, 在零小时加入碳酸氢铵的量不易过高, 1.0% 以下为宜, 否则会造成初 pH 过高, 抑制谷氨酸产生菌的生长。中途 pH 下降到 7.6 时, 可开始流加, 第一次至第三次均流加 1.5%, 第四次流加 1.0%, 其后视残糖情况酌定, 第一次流加碳酸氢铵后应适当提高风量。